

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-158188

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月16日

(51) Int.Cl.<sup>4</sup>

識別記号

F I

A 6 1 K 38/00

ABL

A 6 1 K 37/02

ABL

38/27

C 0 7 K 14/52

38/21

A 6 1 K 37/36

// C 0 7 K 14/52

37/66

審査請求 未請求 請求項の数7 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号

特願平8-334667

(22) 出願日

平成8年(1996)11月29日

(71) 出願人 000199175

千寿製薬株式会社

大阪府大阪市中央区平野町2丁目5番8号

(72) 発明者 小河 貴裕

兵庫県西宮市神垣町7番8-307号

(72) 発明者 徳重 秀樹

兵庫県神戸市西区南別府4丁目366番1-102号

(72) 発明者 渡辺 則子

大阪府吹田市岸辺南1丁目9番24-501号

(74) 代理人 弁理士 谷 良隆

(54) 【発明の名称】 角膜治療用組成物

(57) 【要約】

【課題】角膜障害、特に上皮損傷における角膜治療を促進する組成物を提供すること。

【解決手段】幹細胞因子 (SCF) を含有する医薬組成物を全身投与または局所投与、好ましくは眼表面へ局所投与することにより、角膜障害・損傷部の修復を無処置対照に比してより迅速に行わしめる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】SCFおよび薬学的に許容される担体を含む有する角膜治療用組成物。

【請求項2】角膜治療用組成物が角膜上皮修復促進組成物である請求項1記載の組成物。

【請求項3】SCFが組み換え原核宿主細胞または真核宿主細胞の産物である請求項1記載の組成物。

【請求項4】SCFがヒトSCFである請求項1記載の組成物。

【請求項5】EGF、FGF、GM-CSF、IGF-I、IGF-II、インシュリン、インターフェロン、インターロイキン、KGF、M-CSF、PD-ECGF、PDGF、G-CSF、TGF- $\alpha$ およびTGF- $\beta$ からなる群から選ばれた少なくとも1種の蛋白質を含んでなる請求項1記載の組成物。

【請求項6】角膜治療用組成物が点眼剤である請求項1記載の組成物。

【請求項7】角膜治療用組成物が眼軟膏剤である請求項1記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は幹細胞因子(SCF)を含んでなる角膜治療用組成物、さらに詳しくは角膜上皮修復促進組成物に関する。

## 【0002】

【従来の技術】角膜は上皮、ボーマン膜、実質、デスメ膜および内皮の5層からなる無血管の透明な結合組織である。角膜の最外層である角膜上皮は5~6層の細胞からなる厚さ約50 $\mu$ mの組織であり、角膜の厚みの約1/10を占める。この角膜上皮は、解剖学的構造からさらに表層細胞、翼細胞および基底細胞の3群に分けることができる。表層細胞は最表層に位置する2~3層の扁平な多角形の細胞で、厚さ約4 $\mu$ mに対して長さは約40 $\mu$ mにも達する。表層細胞の表面には微小な突起が見られ、涙液層、特にそのムチン層の付着をよくするとともに、表面積を大きくして涙液からの物質の拡散と能動輸送を容易にさせる役目をもっている。表層細胞の細胞質にはミトコンドリアは少なく、グリコーゲン顆粒が多く見られる。表層細胞は互いに強固に接着しており、細菌をはじめ他の異物の侵入を阻む主要なバリアーとなっている。翼細胞は表層細胞の下にあり、基底細胞層から押し出されてきた細胞が徐々に扁平化して表層細胞になっていく中間過程に位置する細胞である。細胞間にはデスメゾームで接着しており、細胞間の相互嵌合が強くみられる。基底細胞は角膜上皮の最下層の1層で、高さ約18 $\mu$ m、幅約10 $\mu$ mの多角柱状の細胞である。細胞分裂が盛んで、分裂の結果生じた娘細胞は翼細胞となり、さらに表層細胞となって角膜表層から脱落していく。この周期は約1~2週間といわれている。基底細胞の基底部の細胞膜には、ヘミデスモゾームと呼ばれる接着装置

があり、その下の基底膜と接着している。ヘミデスモゾームと基底膜、さらにその下にあるアンカリングフィブリルは角膜上皮の接着により非常に重要な役目をもっている。基底膜は基底細胞が形成する厚さ約50~60nmの膜でタイプIVコラーゲン、ラミニンおよび硫酸ヘパランなどから成っている。

【0003】このような角膜上皮は種々の原因で欠損することがある。角膜上皮欠損は臨床的に、単純性上皮欠損、再発性上皮欠損および遷延性上皮欠損に分けられる。単純性上皮欠損は、たとえば涙液減少症、角膜感染症、幹細胞疲弊症、外傷などにより上皮細胞が脱落したり破壊されることにより起こる。涙液減少症に伴う疾患には、たとえばライリー・デイ(Riley-day)症候群、シャイ・ドラガー(Shy-Drager)症候群、シェーグレン(Sjogren)症候群、サルコイドーシス、アミロイドーシス、放射線照射治療の後遺症、兔眼症、ビタミンA欠乏症、スティーブンス・ジョンソン(Stevens-Johnson)症候群、眼類天疱瘡、眼瞼縁炎およびマイボーム腺炎、眼内手術の後遺症、コンタクトレンズ障害、糖尿病性角膜上皮症、VD T作業によるドライアイなどが含まれる。角膜感染症に伴う障害には、たとえばウイルス性上皮炎などが含まれる。幹細胞疲弊症には、スティーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、熱又は化学腐食、イドクスウリジン(IDU)、緑内障治療剤等の薬剤毒性などが含まれる。再発性上皮欠損は、たとえば再発性角膜上皮びらん(外傷性を含む)、上皮基底膜変性症、格子状角膜変性症、レイズ ビュックラース(Reis Buecklers)角膜変性症、糖尿病性角膜上皮症などにより上皮細胞の実質への接着性が脆弱化することによりもたらされる。遷延性上皮欠損は、たとえば化学腐食、角膜ヘルペス、神経麻痺性角膜炎、角膜感染症、抗ウイルス剤、抗真菌剤による毒性により上皮細胞の移動に障害が生ずることにより起こる。

【0004】このような角膜の障害、特に角膜上皮に創傷や欠損が生じた場合の修復、再生については従来角膜上皮基底細胞の増殖のみにより行われると考えられていたが、最近では角膜輪部に位置する幹細胞が増殖して徐々に角膜中央部へと平行移動し、角膜表層に押し出されて角膜上皮を再生するという説が有力となってきている

[Schermer A. ら J. Cell. Biol. 103:49-62(1986)]。輪部上皮は結膜上皮と角膜上皮の移行部である角膜輪部に長さ約1mmにわたって位置しており、ヒトではPOV(Palisades of Vogt)といわれる特異なしわ状構造を形成している。この輪部上皮は、角膜の約1/4の面積を占めるが、杯細胞がないという点で結膜上皮と異なっており、また角膜上皮とは、上皮組織に血管があり、ランゲルハンス細胞やメラノサイトが存在することからも異なっていることがわかる。さらに角膜上皮の幹細胞がここに存在すると考えられている。実際、このような輪部上皮が角膜上に再生すると、角膜上皮と同

じ性状を持った上皮を形成していく。

【0005】家兎の実験では角膜上皮欠損後、輪部上皮は速やかに細胞移動と増殖を繰り返し、大体4～5日で上皮の一次修復を完了する。その後も上皮増殖が数日持続し、次第に厚さを増していき約2週間で角膜上皮と同様な形態となる。また、再生上皮内に杯細胞を認めるのは再生結膜上皮の特徴であるが、再生の過程でこのような杯細胞は出現しない。このように輪部上皮による再生は周辺部角膜上皮によるものと非常に近似している。しかし修復後2週間の再生輪部上皮は、再生角膜上皮と同一ではないことが明らかとなっている。例えば上皮内蛋白のパターンの多少の差異や電子顕微鏡的所見が、やや結膜に類似するとともにされている。さらに輪部上皮による再生上皮の伸展・移動はステロイドで抑制されるが、再生角膜上皮では抑制されないことが報告されている。このように創傷治癒後早期の輪部再生上皮は、角膜上皮といささか異なっているようであるが、長期的には角膜上皮と同一の細胞形態機能を回復するものと考えられる。いずれにしても角膜に創傷や欠損が生じると、角膜感染の危険が高まり、また角膜潰瘍、角膜実質混濁などを引き起こし、視機能に対する重大な障害をきたすことになる恐れがある。したがって角膜上皮に創傷や欠損が生じた場合は一刻も早くこれを修復することが肝要である。しかし、このような角膜上皮創傷や欠損に対しては、圧迫眼帯あるいはソフトコンタクトレンズの装着、眼軟膏の塗布などの対症療法しかないのが現状であり、その積極的な治療法の確立が強く望まれている。

#### 【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、角膜上皮の一部または全部が欠損した場合、その修復、再生が促進され、また疲弊に陥った幹細胞が賦活されて角膜上皮が一刻も早く正常な状態に復帰するような手段を求めて鋭意研究を続けてきた。

#### 【0007】

【課題を解決するための手段】その結果、造血幹細胞の増殖分化を促進する作用を有するものとして知られている幹細胞因子(Stem Cell Factor; 以下SCFと略称することがある。)に角膜上皮修復促進作用のあることを実験的に確かめ、さらに検討を重ねて本発明を完成するに至った。すなわち本発明は、(1)SCFおよび薬学的に許容される担体を含有してなる角膜治療用組成物、(2)角膜治療用組成物が角膜上皮修復促進組成物である前記(1)記載の組成物、(3)SCFが組み換え原核宿主細胞または真核宿主細胞の産物である前記(1)記載の組成物、(4)SCFがヒトSCFである前記(1)記載の組成物、(5)EGF、FGF、GM-CSF、IGF-I、IGF-II、インシュリン、インターフェロン、インターロイキン、KGF、M-CSF、PD-ECGF、PDGF、G-CSF、TGF- $\alpha$ およびTGF- $\beta$ からなる群から選ばれた少なくとも

1種の蛋白質を含んでなる前記(1)記載の組成物、(6)角膜治療用組成物が点眼剤である前記(1)記載の組成物、および(7)角膜治療用組成物が眼軟膏剤である前記(1)記載の組成物、である。

#### 【0008】

【発明実施の形態】本発明に用いられる“幹細胞因子”又は“SCF”という語は、天然SCF(例えば天然ヒトSCF)、並びに天然SCFの生物学的造血活性を持つように天然SCFのものと重複可能なアミノ酸配列を有するかまたはグリコシル化された非天然ポリペプチドを意味する。このSCFについては特表平4-502628号(WO 91/05795)に詳しく述べられており、その公報の記載内容は参照として本願明細書中に含めるものとする。すなわち、このSCFは、初期造血前駆細胞を含めた原始前駆細胞の増殖を刺激する能力を有する因子であり、この因子で哺乳類を処置すると、骨髓様及びリンパ球様系統の造血細胞の増加を引き起こすことが知られている。本発明においてはこのSCFを含む角膜治療用組成物が前述の角膜に障害をきたしている患者に局所投与または全身投与される。この医薬組成物には、適当な希釈剤、防腐剤、可溶化剤、乳化剤、アジュバント及び/又は担体とともに治療上有効量のSCFを含有する医薬組成物が含まれる。本明細書中で用いる“治療上有効量”という用語は指定の条件及び投与養生法に対して治療効果を提供する量を示す。このような組成物は、液体であるか、あるいは凍結乾燥又は乾燥された物であって、種々の緩衝剤(例えばトリス-塩酸、酢酸塩、磷酸塩)、pH、及びイオン強度から成る希釈剤、表面に吸着しないようにするためのアルブミン又はゼラチンのような添加剤、界面活性剤(例えば Tween 20、Tween 80、Pluronic F68、胆汁酸塩)、可溶化剤(例えばグリセリン、ポリエチレングリコール)、酸化防止剤(例えばアスコルビン酸、メタ亜硫酸ナトリウム)、防腐剤(例えばチメロサル、ベンジルアルコール、パラベン類)、増量剤又は等張化剤(例えばラクトース、マンニトール)、蛋白質に対するポリエチレングリコールのような重合体の共有結合、金属イオンとの錯体化、あるいはポリ乳酸、ポリグリコール酸、ヒドロゲル等のような重合化合物の粒状製剤中又はその表面上への、あるいはリボソーム、マイクロエマルジョン、ミセル単層又は多層小胞、赤血球ゴースト、又はスフェロプラスト中への該物質の取り込みを包含するものである。

【0009】このような組成物はSCFの物理的状態、溶解性、安定性、イン・ビボ放出速度、イン・ビボのクリアランスに影響を及ぼす。どのような処方にするかは、SCF活性を有する蛋白質の物理的及び化学的特性による。例えば、SCFの膜結合形態に由来する物質は、界面活性剤を含有するものにするのがよい。制御又は持続的放出組成物としては、類油性デポー製剤(例えば脂肪酸、ワックス、油)中のものが挙げられる。さら

に、重合体(例えばボロキサマー又はボキサミン)と、組織特異的受容体、配位子又は抗原に対する抗体に結合するか、あるいは組織特異的受容体の配位子に結合するSCFとて被覆される粒状組成物も本発明に包含される。

【0010】本発明の組成物の具体的な剤形としては、たとえば非経口、経肺、経鼻、及び経口を含めた全身投与剤や点眼剤、眼軟膏剤を含めた局所投与剤が挙げられる。また、本発明に用いられるSCFはEGF、FGF、GM-CSF、IGF-I、IGF-II、インシュリン、インターフェロン、インターロイキン、KGF、M-CSF、PD-ECGF、PDGF、TGF- $\alpha$ およびTGF- $\beta$ からなる群から選ばれた少なくとも1種と併用して、角膜上皮修復を一層促進することもできる。これらの角膜治療用組成物の中で障害が生じた角膜上皮修復の促進のためには局所投与剤、すなわち点眼剤や眼軟膏剤として眼表面に投与するのが特に効果的な場合が多い。点眼剤としては一般的に使用されているあらゆる形態で、たとえば水性点眼液、水性懸濁点眼液、粘性点眼液、可溶性点眼液等の水性点眼剤の形で、またはたとえば非水性点眼液、非水性懸濁点眼液などの非水性点眼剤の形で提供される。本発明の角膜治療用組成物が水性点眼液として製剤される場合には、通常水性点眼液に用いられる添加剤を含有させるのがよい。このような添加剤としては、例えば保存剤、等張化剤、緩衝剤、安定化剤またはpH調整剤等が用いられる。保存剤としては、たとえばパラベン類(パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸プロピル等)、逆性石鹼類(たとえば塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、グルコン酸クロルヘキシジン、塩化セチルピリジニウム等)、アルコール誘導体(たとえばクロロブタノール、フェネチルアルコール、ベンジルアルコール等)、有機酸およびその塩類(たとえばデヒドロ酢酸ナトリウム、ソルビン酸またはその塩類等)、フェノール類(たとえばパラクロルメトキシフェノール、パラクロルメタクレゾール等)、有機水銀剤(たとえばチメロサル、硝酸フェニル水銀、ニトロメゾール等)等が用いられる。

【0011】等張化剤としては、たとえば塩化ナトリウム、ソルビトール、マンニトール、グリセリンなどが用いられ、緩衝剤としては、たとえばリン酸塩、ホウ酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、アミノ酸塩などが用いられ、安定化剤(キレート剤)としては、たとえばエデト酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、縮合リン酸ナトリウム、亜硫酸塩等が用いられ、pH調整剤としては、たとえば塩酸、酢酸、水酸化ナトリウム、リン酸などが用いられる。また、水溶性高分子化合物、界面活性剤などを適宜配合して製剤することもできる。水溶性高分子化合物としては、たとえばセルロース誘導体、ビニル系高分子化合物及び多価アルコール化合物等が用いられ、セルロース誘導体としては、たとえばメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース等のアルキルセルロース、ヒ

ドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロースなどのヒドロキシアルキルセルロース等が用いられ、ビニル系高分子化合物としては、たとえばポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、カルボキシビニルポリマー、エチレン無水マレイン酸ポリマー等が用いられ、多価アルコール化合物としては、たとえばポリエチレングリコール(マクロゴール)、プロピレングリコール等が用いられる。界面活性剤としては、たとえばポリソルベート、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油などの非イオン界面活性剤、第4級アンモニウム塩等の陽イオン界面活性剤、アルキルサルフェート等の陰イオン界面活性剤、レシチン等の両イオン界面活性剤等が用いられる。

【0012】本発明の角膜治療用組成物が水性懸濁点眼液として製剤される場合には、通常水性懸濁点眼液に用いられる懸濁化剤が用いられる。このような懸濁化剤としては、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシビニルポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール(マクロゴール)、コンドロイチン硫酸ナトリウム、ポリソルベート80等が用いられる。本発明の組成物が点眼剤である場合は、点眼に通常使用されるpH範囲内に調整して用いるのが有利であり、通常pH3~8、好ましくはpH4~6に調整して用いられる。このような調整には、たとえば塩酸、酢酸、水酸化ナトリウム等が用いられる。また、本発明組成物は、点眼に通常使用される浸透圧範囲内に調整して用いるのが有利であり、通常230~450mOsm、好ましくは260~320mOsmに調整して用いられる。このような調整には、たとえば塩化ナトリウム、ホウ酸、グリセリン、マンニトール等が用いられる。眼軟膏剤としても、一般的に使用されているあらゆる形態のものが含まれる。たとえば眼軟膏基剤を必要により加熱しておき、SCFと混和することにより、容易に製造することができる。SCFは必要により適当な溶剤、たとえば滅菌精製水、注射用蒸留水、ヒマシ油等の植物油に溶解もしくは懸濁させておいて眼軟膏基剤と混和してもよい。眼軟膏基剤としては、たとえば精製ラノリン、ワセリン、プラスチックベース、流動パラフィンなどが挙げられる。その他目的を損なわない限り、前述の保存剤、安定化剤などを任意に配合することができる。

【0013】本発明の角膜治療用組成物を投与して効果のある疾病には、前述の角膜障害があげられ、具体的には、たとえばライリー・デイ(Riley-day)症候群、シャイ・ドラガー(Shy-Drager)症候群、シェーグレン(Sjogren)症候群、サルコイドーシス、アミロイドーシス、放射線照射治療の後遺症、兔眼症、ビタミンA欠乏症、スティーブンス・ジョンソン(Stevens-Johnson)症候群、眼類天疱瘡、眼瞼縁炎およびマイボーム腺

炎、眼内手術の後遺症、コンタクトレンズ障害、糖尿病性角膜上皮症、VDT作業によるドライアイなどの涙液減少症、たとえばウイルス性上皮炎などの角膜感染症、たとえばスティーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、熱又は化学腐食、イドクスウリジン（IDU）、緑内障治療剤等の薬剤毒性などの幹細胞疲弊症を含む単純性上皮欠損症、たとえば再発性角膜上皮びらん（外傷性を含む）、上皮基底膜変性症、格子状角膜変性症、レイズ・ビュックラース（Reis Buecklers）角膜変性症、糖尿病性角膜上皮症などを含む再発性上皮欠損症、およびたとえば化学腐食、角膜ヘルペス、神経麻痺性角膜炎、角膜感染症、抗ウイルス剤、抗真菌剤による遅延性上皮欠損症があげられる。それらの中でも特に幹細胞疲弊症に属する各症状の治療に適している。本発明の医薬組成物をこれらの対象疾病患者に治療上有効量を投与すると本医薬組成物を投与されていない疾病に比べてより迅速に角膜上皮修復が行われる。

【0014】本発明において“治療上有効量”は、患者の主治医または獣医により決定される。この量は当業者は容易に知ることができ、本発明に従って投与したとき創傷は迅速に治癒する。治療上有効量に影響を与える因子としては、使用する治療薬の比活性、疾病の原因、種類または欠損上皮の大きさ、創傷の深さ、感染の有無、損傷を受けてからの時間、並びに患者の年齢、物理的条件、他の疾患状態、及び栄養状態が挙げられる。また、患者が服用している他の医薬品も投与する治療薬の治療上有効量に影響を与える。“薬学的に許容される”とは、処方に含まれる治療薬以外の成分が本発明に従って治療する患者への投与に適したものであることを意味する。本発明の治療用組成物が点眼液である場合のSCFの濃度は通常0.0001～10w/v%、好ましくは0.001～1w/v%であり、眼軟膏剤である場合のSCFの濃度は、通常0.0001～10w/w%好ましくは0.001～1w/w%である。

【0015】SCFを患者への投与に適した医薬品処方に処方するに際しては、薬学的に許容される助剤及び希釈剤を含むことができる。全身投与の場合、治療薬の治療上の有効量を非経口、例えば皮下、静脈、筋肉内及び腹腔内注射で投与する。非経口での創傷の治療には、種々の要因、例えば創傷の型、重症度及び部位に応じて、治療薬を単回、複数回または連続投与が含まれる。本発明の好ましい実施態様によれば、SCFを局所投与して患者の迅速な角膜上皮修復を促進することができる。この局所投与は単回投与または複数の間隔での反復して行

〔配合処方〕

rhSCF	1mg
ホウ酸	1.6g
ホウ砂	0.7g
パラオキシ安息香酸メチル	0.026g
パラオキシ安息香酸プロピル	0.014g

\* ってもよい。好ましい投与法は治療する創傷の型及び症状の度合により異なる。治療薬を単回局所投与しても、創傷は未治療の同じ創傷と比べて顕著に早く治癒する。創傷が感染しているまたは慢性的に肉芽化している場合には、治療薬を連日反復投与することにより、治療していない同様の創傷に比べ、より早く治癒する。市販用医薬品に使用するために十分な量のSCFを製造するためには、これらの蛋白質を組換え原核または真核宿主細胞発現産物として製造する。SCFの生物学的活性型は、原核細胞宿主例えば大腸菌を、これらのポリペプチドをコードする適切な発現ベクターで形質転換し、外来遺伝子を発現させる条件で増殖させると大量に回収できるので、その方法で製造したSCFを使用するのが好ましい。

【0016】

【実施例】以下に実施例および試験例をあげて本発明をさらに説明するが、本発明はそれらによって限定されるものではない。

実施例1 水性点眼剤（1）

20 組み換えヒトSCF（rhSCF）を有効成分とする水性点眼剤の調製

〔配合処方〕

rhSCF	1mg
酢酸ナトリウム	50mg
塩化ベンザルコニウム	5mg
塩化ナトリウム	650mg
ヒト血清アルブミン	100mg
水酸化ナトリウム	適量
希塩酸	適量
滅菌精製水を加えて全量で	100ml
	(pH6.0)

〔調製法〕滅菌精製水80mlを加熱し、塩化ベンザルコニウムを加えて溶解した後、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、水酸化ナトリウムおよび希塩酸を順次加えて溶解し、さらにrhSCFおよびヒト血清アルブミンを加えて完全に溶解した。該溶液を室温まで冷却後、滅菌精製水を加えて全量100mlとし、0.22μmメンブランフィルターにて滅菌ろ過した後、所定の容器に充填して水性点眼剤とした。

【0017】実施例2 水性点眼剤（2）

rhSCFを有効成分とする水性点眼剤の調製

ヒト血清アルブミン	100mg
滅菌精製水を加えて全量で	100ml
	(pH7.5)

〔調製法〕滅菌精製水80mlを加熱し、パラオキシ安息香酸メチルおよびパラオキシ安息香酸プロピルを加えて溶解した後、室温まで冷却した。該溶液にホウ酸およびホウ砂を順次加えて溶解し、さらにrhSCFおよびヒト血清アルブミンを加えて完全に溶解した。該溶液に滅菌精製水を加えて全量100mlとし、0.22 $\mu$ m \*

\*メンブランフィルターにて滅菌濾過した後、所定の容器に充填して水性点眼剤とした。

【0018】実施例3 用時溶解型水性点眼剤(3) rhSCFを有効成分とする用時溶解型水性点眼剤の調製

〔配合処方〕	
〔凍結乾燥製剤〕	
rhSCF	10mg
ヒト血清アルブミン	1g
滅菌精製水を加えて全量で	100ml

〔溶解液〕	
酢酸ナトリウム	50mg
塩化ベンザルコニウム	5mg
塩化ナトリウム	650mg
水酸化ナトリウム	適量
希塩酸	適量
滅菌精製水を加えて全量で	100ml
	(pH6.0)

〔調製法〕滅菌精製水100mlにrhSCFおよびヒト血清アルブミンを加えて溶解させ、該溶液を0.22 $\mu$ mメンブランフィルターにて滅菌濾過した後、所定の容器に充填して凍結乾燥品を調製した。使用時にこの凍※

※結乾燥製剤を上記の溶解液で溶解した。

【0019】実施例4 水性懸濁点眼剤 rhSCFを有効成分とする水性懸濁点眼剤の調製

〔配合処方〕	
rhSCF	0.5mg
リン酸二水素ナトリウム	5g
塩化ナトリウム	0.9g
ポリソルベート80	2g
クロロブタノール	0.3g
水酸化ナトリウム	適量
滅菌精製水を加えて全量で	100ml
	(pH7.0)

〔調製法〕滅菌精製水80mlを加熱し、クロロブタノールを加えて溶解後、さらにリン酸二水素ナトリウム、塩化ナトリウムおよびポリソルベート80を順次加えて溶解し、室温まで冷却した。該溶液を水酸化ナトリウムでpH5.0に調整後、滅菌精製水を加えて全量100mlとし、0.22 $\mu$ mメンブランフィルターにて滅菌★

★濾過した。これに予め滅菌したrhSCF凍結乾燥標品を均一に分散させ、該懸濁液を所定の容器に充填して水性懸濁点眼剤とした。

【0020】実施例5 眼軟膏剤 rhSCFを有効成分とする眼軟膏剤の調製

〔配合処方〕	
rhSCF	10g
流動パラフィン	100g
白色ワセリンを加えて全量で	1000g

〔調製法〕流動パラフィンと白色ワセリンを予め加熱滅菌した。次いでrhSCFを流動パラフィンと十分混和後、白色ワセリンと十分練り合わせて、眼軟膏剤を製造☆

☆した。

【0021】実施例6 水性注射剤 rhSCFを有効成分とする水性注射剤の調製

11

〔配合処方〕

rhSCF

IL-2

滅菌生理食塩水を加えて全量で

〔調製法〕滅菌生理食塩水100mlにrhSCFおよびIL-2の凍結乾燥品を加えて溶解し、該溶液を0.22 $\mu$ mメンブランフィルターにて滅菌ろ過した後所定の容器に充填して水性注射剤とした。

【0022】試験例1 市販rmSCFの正常ラット角膜上皮修復促進効果の検討

## 試験方法

## 1. 使用動物

SD系雄性ラット9匹を使用した。

## 2. 試験薬剤

市販品の0.1%BSA含有PBSに溶解したrmSCF 10 $\mu$ g/mlを使用した。対照としてその基剤を使用した。

## 3. 実験方法

動物9匹に全身麻酔を施し、眼科用メスで両眼の角膜上皮層の全域（角膜輪部の内側領域）を剥離した。薬剤の点眼は右眼にrmSCFを左眼に基剤を1日4回5 $\mu$ lずつ3日間行った。剥離面積の観察は剥離後12時間おきに0.1%フルオレセインを点眼し、スリットランプにより写真撮影を行い画像解析装置にて未修復の角膜上皮の面積を測定した。各観察終了後には感染防止のため塩酸ロメフロキサシン含有点眼液（商品名：ロメフロ

## 4. 統計処理

10万単位

1万単位

100ml

\*ペアード (Paired) t-テストを用いて反対眼（基剤群）に対する有意差検定を行った。

## 5. 試験結果

角膜上皮剥離直後の剥離面積に対する各時間の角膜上皮修復面積の割合（角膜上皮修復率(%)）を〔図1〕に示した。剥離12時間後ではrmSCF群及び基剤群の角膜上皮修復率はほぼ同程度であったが、剥離24時間後以降はいずれの時間においてもrmSCF群のほうが角膜上皮修復率は高く、有意な修復促進効果を示した。

## 【0023】

【発明の効果】本発明の角膜治療用組成物を角膜障害、特に角膜上皮損傷患者に全身投与または局所投与することにより、患部を迅速に修復・再生あるいは正常な状態に復帰させることができる。

## 【図面の簡単な説明】

20 【図1】角膜上皮欠損の治癒におけるSCFの効果を示すグラフである。横軸は角膜上皮剥離後の時間（時間）を、縦軸は角膜上皮剥離後直後の剥離面積に対する各時間における修復面積の割合(%)を意味する。

## 【符号の説明】

○ : SCF

■ : 基剤

\* :  $p < 0.05$ \* \* :  $p < 0.01$ 

【図1】

